

УДК 615.32:577.175.62:543.544

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ СТЕРОЇДНИХ СПОЛУК У СИРОВИНІ РОГОЗУ ВУЗЬКОЛИСТОГО

© Є. О. Довгаль, І. Г. Гур'єва, В. С. Кисличенко, І. О. Журавель

Typha angustifolia L. (рогоз вузьколистий) – рослина, яка широко розповсюджена на території України у вологих місцях, зокрема по берегах річок, болотяних місць тощо. Сировина рогозу в народній медицині застосовується для лікування багатьох захворювань. Одним з показань до застосування сировини рогозу є запальні процеси. Оскільки відомо, що виражену протизапальну активність проявляють стероїдні сполуки, доцільно було комплексно дослідити рогоз на вміст даної групи речовин та виявити якісний склад і визначити кількісний вміст стероїдних сполук у листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу вузьколистого.

Метою даної роботи було ідентифікація та визначення кількісного вмісту стероїдних сполук у листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу вузьколистого.

Методи дослідження. Ідентифікацію стероїдних сполук проводили за допомогою якісних реакцій. Кількісний вміст суми стероїдних сполук у сировині рогозу вузьколистого визначали спектрофотометричним методом.

Результати дослідження. В результаті проведеного дослідження в листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу вузьколистого було встановлено наявність стероїдних сполук. Аналізуючи отримані дані стосовно кількісного вмісту суми стероїдних сполук у досліджуваних видах сировини встановлено, що вміст даного класу речовин домінував у листі рогозу, децю менше – у кореневищах, слідові кількості – у плодах.

Висновки. Результати даного експерименту можуть бути використані при розробці та одержанні субстанцій та нових фітозасобів з даних видів сировини, а також при визначенні параметрів стандартизації сировини рогозу вузьколистого

Ключові слова: рогоз вузьколистий, листя, плоди, кореневища, корені, стероїдні сполуки, спектрофотометрія, якісні реакції

Typha angustifolia L. (Narrow-leaved Catoptric) is a widespread in Ukraine herb, that grows in damp places, especially along rivers, marshy places, etc. Herbal material of Narrow-leaved Catoptric is used in medicine for treatment of many diseases. Inflammation is one of the indications for Narrow-leaved Catoptric use. As it is known, steroid compounds have a prominent anti-inflammatory activity, complex research of this group of compounds, as well as qualitative and quantitative determination of steroid compounds in leaves, fruit, rhizomes and roots of Narrow-leaved Catoptric became relevant.

The **aim** of the given research was qualitative and quantitative determination of steroid compounds in leaves, fruit, rhizomes and roots of *Typha angustifolia* L.

Methods. Wet chemistry reactions were used for identification of steroid compounds. Quantitative determination of steroid compounds in herbal material of Narrow-leaved Catoptric was carried out using spectroscopy method.

Results. In result of research, steroid compounds were determined in leaves, fruit, rhizomes and roots of *Typha angustifolia* L. While analyzing the obtained data about the sum of steroid compounds content, it was determined, that the highest content of this group of compounds was in *Typha angustifolia* L. leaves, slightly less – in rhizomes, and trace amount – in fruit.

Conclusion. Results of the given study can be used for determination and obtaining of substances and original phytotherapeutic remedies on the basis of the given herbal material, as well as for determination of standardization parameters of *Typha angustifolia* L.

Keywords: *Typha angustifolia* L., leaves, fruit, rhizomes, roots, steroid compounds, spectroscopy method, wet chemistry reactions

1. Вступ

Рослини роду рогоз (*Typha* L.) відомі здавна. Про них ще писали Теофраст та Діоскорид [1]. Одним з поширених видів рогозу є рогоз вузьколистий (*Typha angustifolia* L.).

Листя рогозу вузьколистого виявляють багато-векторну фармакологічну активність, зокрема листя проявляють анитромболітичну та цитостатичну дії [2]. В Індії пилок рогозу вузьколистого застосовують при лікуванні сечокам'яної хвороби, діареї, внутріш

ньому крововиливі, болючих менструаціях, раку лімфатичної системи, як протиглиний та в'язучий засіб засіб [3, 4]. Крім того, сировина рогозу вузьколистого та рогозу широколистого проявляє антиміко-бактеріальну активність [4].

Листя рогозу домініканського (*Typha dominicensis*) проявляє сечогінну дію [4]. Екстракт коренів рогозу вузького (*Typha angustata*) виявляє анальгезуючу, антиоксидантну та цитотоксичну активність [5].

2. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок з важливими науковими чи практичними питаннями

Багато захворювань супроводжується запальними процесами. Тому актуальним є пошук нових протизапальних засобів, зокрема рослинного походження.

Протизапальну активність виявляють водні та 70 % метанольні екстракти пилку рогозу вузьколистого [6]. Крім того, муку кореневищ рогозу вузьколистого застосовують при запальних процесах кишечника [7]. Відомо, що протизапальну активність проявляє такий клас сполук як стероїди [8].

Тому актуальним є вивчення стероїдних сполук у листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу вузьколистого.

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій

Аналіз літературних джерел стосовно вивчення стероїдних сполук рогозу вузьколистого показав, що дані з визначення цієї групи біологічно активних сполук є обмеженими.

Пилок рогозу вузьколистого містить стерини [2]. Італійськими вченими на початку 90-х років XX століття виявлено у сировині рогозу широколистого (*Typha latifolia*) сполуки стероїдної природи, зокрема β -ситостерол, оксоситостерол, 7β -гідроксиситостерол та 7α -гідроксиситостерол [9, 10].

У листі та кореневищах рогозу домініканського закордонними вченими встановлено наявність стероїдних сполук [4].

Листя *Typha angustata* містить стероїди, а саме β -ситостерол, ланостерол, холестерол, (20 S)24-метил-енлофенол та стигмат-4-ен-3,6-діон. Завдяки наявності цих сполук сировина виявляє протизапальну активність [11].

4. Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми

Оскільки в Україні дана рослина є не фармакопейною, то відомості щодо вмісту груп біологічно активних сполук в сировині рогозу вузьколистого вивчені не достатньо, тому доцільним є проведення детального фармакогностичного вивчення, зокрема вивчення сполук стероїдної природи.

5. Формулювання цілей (завдань) статті

Метою нашої роботи було проведення досліджень з виявлення та встановлення кількісного вмісту стероїдних сполук у листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу вузьколистого.

6. Виклад основного матеріалу дослідження (методів і об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів

Об'єктами дослідження були листя, плоди, кореневища та корені рогозу вузьколистого. Сировина була заготовлена в Харківській області у вересні 2015 року.

Ідентифікацію стероїдних сполук у сировині рогозу вузьколистого проводили за реакцією з *n*-диметиламінобензальдегідом у кислому середовищі при

нагріванні. В результаті проведеної якісної реакції у листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу було встановлено наявність сполук стероїдної природи.

Кількісний вміст суми стероїдних сполук проводили спектрофотометричним методом за методикою, що наведена нижче [12].

Близько 1 г (точна наважка) сировини поміщали у плоскодонну колбу місткістю 100 мл, додавали піпеткою 50 мл 96 % спирту етилового, колбу з сировиною зважували та нагрівали протягом 1 години з моменту початку кипіння розчинника. Потім витяжку охолоджували до кімнатної температури, перемішували та фільтрували крізь паперовий фільтр 30–40 мл (розчин А).

5 мл розчину А переносили до скляної пробірки зі шліфом та сюди ж додавали піпеткою 5 мл 1 % розчину *n*-диметиламінобензальдегіду в 4 н спиртовому розчині кислоти хлоридної. Пробірку закривали скляною кришкою, струшували для перемішування рідин та нагрівали протягом 2 годин у термостаті при температурі $58 \pm 0,5$ °C. Розчин охолоджували до кімнатної температури та визначали його оптичну густину на спектрофотометрі OPTIZEN POP при довжині хвилі 518 нм в кюветах з товщиною шару 1 см. В якості розчину порівняння використовували 5 мл розчину А та 5 мл 4 н спиртового розчину кислоти хлоридної, який також витримували в термостаті аналогічно випробовуваному розчину.

Вміст суми стероїдних сполук (X, %) в перерахунку на абсолютно суху сировину знаходили за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 0.0101 \cdot 50 \cdot F \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де *a* – кількісний вміст кобальту хлориду, знайдений по калібрувальному графіку;

0,0101 – коефіцієнт перерахунку концентрації кобальту хлориду;

50 – початковий об'єм витяжки, мл;

F – коефіцієнт розведення;

m – наважка сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

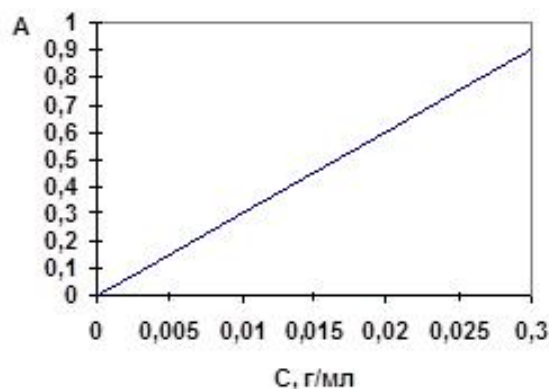


Рис. 1. Калібрувальний графік залежності оптичної густини розчинів кобальту хлориду від концентрації

Результати проведених досліджень приведені в табл. 1.

Таблиця 1

Кількісний вміст суми стероїдних сполук
у листі, плодах, кореневищах та коренях
рогозу вузьколистого

№ з/п	Сировина	Вміст, %
1	Листя	0,19±0,01
2	Плоди	0,04±0,01
3	Кореневища	0,12±0,01
4	Корені	0,10±0,01

Як видно з табл. 1, у листі рогозу вузьколистого був визначений найбільший вміст суми стероїдних сполук (0,19 %), дещо менший вміст спостерігався у кореневищах (0,12 %), слідова кількість стероїдних сполук була визначена у плодах досліджуваної рослини (0,04 %).

7. Висновки

В даній статті наведені результати експерименту щодо ідентифікації та визначення кількісного вмісту суми стероїдних сполук у листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу вузьколистого.

1. Методом якісних реакцій у сировині рогозу вузьколистого виявлено сполуки стероїдної природи.

2. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст стероїдних сполук у листі, плодах, кореневищах та коренях рогозу вузьколистого.

3. В результаті дослідження встановлено, що найбільший вміст стероїдних сполук спостерігався у листі рогозу, найменший – у плодах.

4. Одержані результати експерименту можуть бути використані при одержанні субстанцій із сировини рогозу вузьколистого та розробці параметрів стандартизації досліджуваних видів сировини.

Література

- Капитонова, О. А. Рогозы Вятско-Камского края [Текст]: монография / О. А. Капитонова, Г. Р. Платунова, В. И. Капионов. – Ижевск: Изд-во «Удмуртский университет», 2012. – 190 с.
- Umesh, M. K. Evaluation of in vitro anti-thrombolytic activity and cytotoxicity potential of *Typha angustifolia* L. leaves extracts [Text] / M. K. Umesh, C. B. Sanjeevkumar // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 6, Issue 5. – P. 81–85.
- Padalia, H. Comparative phytochemical analysis of aerial parts of *A. procumbens*, *F. dichotoma*, *S. spontaneum*, *S. nigra* and *T. angustifolia* [Text] / H. Padalia, S. Chanda // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. – 2015. – Vol. 4, Issue 2. – P. 11–16.
- Rao, M. R. K. Preliminary Phytochemical Analysis of *Typha domingensis* Rhizome Aqueous Extracts [Text] / M. R. K. Rao, Y. Saranya, D. Divya // Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. – 2016. – Vol. 37, Issue 1. – P. 30–32.
- Islam, F. Evaluation of Antioxidant, Analgesic and Cytotoxic Activities of *Typha angustata* L. Root [Text] / F. Is-lam, A. Hossain, M. G. Hossain, G. M. M. Murshid, M. M. Ra-hman // Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2015. – Vol. 14, Issue 1. – P. 55. doi: 10.3329/dujps.v14i1.23736
- Juvekar, A. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Typha angustifolia* pollen grains extracts in experimental animals [Text] / A. Juvekar, M. Bidikar, P. Juvekar, S. Varpe // Indian Journal of Pharmacology. – 2012. – Vol. 44, Issue 6. – P. 788. doi: 10.4103/0253-7613.103303

7. Fruet, A. C. Dietary intervention with narrow-leaved cattail rhizome flour (*Typha angustifolia* L.) prevents intestinal inflammation in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis [Text] / A. C. Fruet, L. N. Seito, V. L. M. Rall, L. C. Di Stasi // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2012. – Vol. 12, Issue 1. doi: 10.1186/1472-6882-12-62

8. Patel, S. S. Systematic review of plant steroids as potential antiinflammatory agents: Current status and future perspectives [Text] / S. S. Patel, J. K. Savjani // The Journal of Phytopharmacology. – 2015. – Vol. 4, Issue 2. – P. 121–125.

9. Della Greca, M. Stigmasterols from *Typha latifolia* [Text] / M. Della Greca, P. Monaco, L. Previtera // Journal of Natural Products. – 1990. – Vol. 53, Issue 6. – P. 1430–1435. doi: 10.1021/np50072a005

10. Greca, M. D. (20S)-4 α -methylencholest-7-en-3 β -ol, an allelopathic sterol from *Typha latifolia* [Text] / M. D. Greca, L. Mangoni, A. Molinaro, P. Monaco, L. Previtera // Phytochemistry. – 1990. – Vol. 29, Issue 6. – P. 1797–1798. doi: 10.1016/0031-9422(90)85019-c

11. Pawar, C. R. Anti-inflammatory activity of leaves of *Typha angustata* (Typhaceae) [Text] / C. R. Pawar, V. N. Ko-lche, P. A. Khedkar // International Journal of Research in Ayurveda and Pharmac. – 2011. – Vol. 2, Issue 5. – P. 1598–1600.

12. Патент на корисну модель № 41309, МПК G01N 33/15. Спосіб кількісного визначення стероїдів та флавоноїдів біологічно активних речовин рослинного походження [Текст] / Кисличенко В. С., Журавель І. О., Ярошенко І. В., Тернінко І. І., Бурда Н. Є., Кисличенко О. А. та ін. – № у 200900463; Заявл. 22.01.2009; Опубл. 12.05.2009, Бюл. № 9.

References

- Kapitonova, O. A., Platunova, G. R., Kapitonov, V. I. (2012). Rogozy Vjatsko-Kamskogo kraja. Izhevsk: Izd-vo «Udmurtskij universitet», 190.
- Umesh, M. K., Sanjeevkumar, C. B. (2014). Evaluation of in vitro anti-thrombolytic activity and cytotoxicity potential of *Typha angustifolia* L. leaves extracts. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6 (5), 81–85.
- Padalia, H., Chanda, S. (2015). Comparative phytochemical analysis of aerial parts of *A. procumbens*, *F. dichotoma*, *S. spontaneum*, *S. nigra* and *T. Angustifolia*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 4 (2), 11–16.
- Rao, M. R. K., Saranya, Y., Divya, D. (2016). Preliminary Phytochemical Analysis of *Typha domingensis* Rhizome Aqueous Extracts. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 37 (1), 30–32.
- Islam, F., Hossain, A., Hossain, M. G., Murshid, G. M. M., Rahman, M. M. (2015). Evaluation of Antioxidant, Analgesic and Cytotoxic Activities of *Typha angustata* L. Root. Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences, 14 (1), 55. doi: 10.3329/dujps.v14i1.23736
- Juvekar, A., Bidikar, M., Juvekar, P., Varpe, S. (2012). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Typha angustifolia* pollen grains extracts in experimental animals. Indian Journal of Pharmacology, 44 (6), 788. doi: 10.4103/0253-7613.103303
- Fruet, A. C., Seito, L. N., Rall, V. L. M., Di Stasi, L. C. (2012). Dietary intervention with narrow-leaved cattail rhizome flour (*Typha angustifolia* L.) prevents intestinal inflammation in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. BMC Complementary and Alternative Medicine, 12 (1). doi: 10.1186/1472-6882-12-62
- Patel, S. S., Savjani, J. K. (2015). Systematic review of plant steroids as potential antiinflammatory agents: Current status and future perspectives. The Journal of Phytopharmacology, 4 (2), 121–125.
- Della Greca, M., Monaco, P., Previtera, L. (1990). Stigmasterols from *Typha latifolia*. Journal of Natural Products, 53 (6), 1430–1435. doi: 10.1021/np50072a005

10. Della Greca, M., Mangoni, L., Molinaro, A., Monaco, P., Previtera, L. (1990). (20S)-4 α -methyl-24-methylencholest-7-en-3 β -ol, an allelopathic sterol from *Typha latifolia*. *Phytochemistry*, 29 (6), 1797–1798. doi: 10.1016/0031-9422(90)85019-c

11. Pawar, C. R., Kolche, V. N., Khedkar, P. A. (2011). Anti-inflammatory activity of leaves of *Typha angustata* (Typhaceae). *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmac*, 2 (5), 1598–1600.

12. Kyslychenko, V. S., Zhuravel', I. O., Jaroshenko, I. V., Terninko, I. I., Burda, N. Je., Kyslychenko, O. A. et al. (2009). Patent na korysnu model' № 41309, MPK G01N 33/15. Sposib kil'kysnogo vyznachennja steroi'div ta flavonoï'div biologichno aktyvnyh rečovyn roslynnoho pohodzhennja. № u 200900463; declared: 22.01.2009; published: 12.05.2009, Byul. № 9.

Дата надходження рукопису 14.09.2016

Довгаль Євгеній Олександрович, аспірант, кафедра хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: cnc@nuph.edu.ua

Гур'єва Ірина Геннадіївна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: cnc@nuph.edu.ua

Кисличенко Вікторія Сергіївна, доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: cnc@nuph.edu.ua

Журавель Ірина Олександрівна, доктор фармацевтичних наук, професор, кафедра хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: nadegdaburda@ukr.net

УДК 615.252.349.7:615.099:616-091:543.544

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЗПОДІЛУ ГЛІБЕНКЛАМІДУ В ОРГАНАХ ТВАРИН ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ГОСТРОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

© Т. В. Кучер, С. І. Мерзлікін, С. Ю. Штриголь

Моделювання ефектів токсичного впливу хімічних сполук, зокрема лікарських засобів є вагомим джерелом інформації при проведенні судово-токсикологічних досліджень. Відомі випадки летальних отруєнь глібенкламідом, переважно при суїцидальному передозуванні. Враховуючи те, що дана речовина досить активно метаболізує, інформація щодо її розподілу в органах і тканинах при надходженні в організм в летальних дозах може бути корисною для вибору біологічних об'єктів.

Мета. Дослідження розподілу глібенкламіду в органах лабораторних тварин при моделюванні гострої інтоксикації.

Методи. Для моделювання гострої інтоксикації глібенкламідом використовували білих щурів, яким препарат у вигляді суспензії з твіном-80 вводили перорально, виходячи з маси тіла тварини та LD₅₀ токсиканту. Після декапітації у піддослідних тварин брали печінку, нирки, шлунок, кишечник із вмістом, серце та кров. Ізолювання глібенкламіду з біологічних об'єктів проводили підкисленим ацетонітрилом. Для очистки одержаних вилучень з тканин органів використовували метод ТШХ, а очистку плазми від її компонентів та концентрування токсиканту проводили методом твердофазної екстракції на картриджах "Oasis HLB Extraction Cartridge", 30 mg. Для виявлення та кількісного визначення глібенкламіду застосовували методи ТШХ та ВЕРХ.

Результати. Встановлено, що у вилученнях, одержаних з біологічних об'єктів, глібенкламід виявлений в межах 2,2–19,8 мкг/мл в пробі. При цьому найвищі концентрації токсиканту виявлені у вилученнях з крові та шлунку, нижчі – з печінки та кишечника із вмістом. Даний токсикант також виявлений у вилученнях з серця в концентрації 4,2 мкг/мл в пробі, що пояснює його вибіркову токсичність на міокард. Враховуючи це, направлене судово-токсикологічне дослідження при передозуванні глібенкламіду можна здійснювати за його нативною речовиною, а крім біологічних об'єктів, рекомендованих ТІАФТ, як альтернативний об'єкт доцільно використовувати серце.

Висновки. За результатами моделювання гострої інтоксикації у тварин встановлено розподіл глібенкламіду в органах і тканинах при надходженні в організм у летальних дозах. Проведене моделювання дозволило визначити біологічні об'єкти: печінка, нирки, шлунок та кишечник з вмістом, серце та кров,